

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-96533

⑬ Int. Cl.⁸

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)4月9日

A 61 K 37/02
47/26
C 07 H 15/256
C 07 K 1/00
3/00
7/10
7/36
// C 07 K 99:00
99:46

Z 8615-4C
Z 7417-4C
Z 7417-4C
8318-4H
8318-4H
8318-4H
8318-4H

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全6頁)

⑮ 発明の名称 ポリペプチド類の吸着防止剤

⑯ 特 願 昭63-247242

⑰ 出 願 昭63(1988)9月30日

⑱ 発 明 者 遠 藤 健 静岡県三島市大場163-1
⑱ 発 明 者 大 野 勝 静岡県田方郡大仁町田京339-14
⑱ 発 明 者 三 浦 郁 文 静岡県田方郡大仁町三福143-3
⑱ 発 明 者 榊 原 秀 夫 静岡県三島市中273-12
⑲ 出 願 人 東洋醸造株式会社 静岡県田方郡大仁町三福632番地の1

明 細 書

1. 発明の名称

ポリペプチド類の吸着防止剤

2. 特許請求の範囲

- (1) ポリペプチド類の吸着を防止するに当り、グリチルリチン類を有効成分とする吸着防止剤。
- (2) ポリペプチド類が、分子量1000～30000の範囲に含まれるペプチドまたはその誘導体である請求項第1項記載の吸着防止剤。
- (3) グリチルリチン類が、グリチルリチン酸、グリチルレチン酸またはそれらの誘導体並びにその非毒性塩の群より選ばれた1種または2種以上である請求項第1項記載の吸着防止剤。
- (4) グリチルリチン類の配合量が、該ポリペプチド類を含有する水溶液または水性懸濁液に対し0.01%～5%である請求項第3項記載の吸着防止剤。

3. 発明の詳細な説明

「産業上の利用分野」

本発明は、ポリペプチド類の器具、容器等へ

の吸着防止を目的とした吸着防止剤に関する。

「従来の技術」

カルシトニン、パラサイロイドホルモン(PTH)、インシュリン等の生理活性ポリペプチド類は、ホルモン活性をはじめとする生理活性を有し、医薬品としてこれらを投与する場合、その有効性と安全性を確保するために他の薬剤以上に、より厳密に投与量を守る必要がある。従来より生理活性ポリペプチド類を水溶液で保存した場合に、ガラス製やプラスチック製などの器具、容器等へ生理活性ポリペプチド類が吸着することが知られており、しかも、例えばインシュリンの吸着はインシュリンの濃度の低い時に、より起きやすいことが報告されている(薬剤学 Vol. 39, 107-111(1979))。通常これらの生理活性ポリペプチド類は極めて微量で活性を示すことより、その投与溶液は極めて低い濃度であり、前述の通り吸着が起こり易い状態にあるといえる。さらに吸着による損失率は、当初の配合量が微量であるだけに非常に大きな問題となり

、薬剤の有効性を確保する上で解決すべき重要な課題である。

生理活性ポリペプチド類の吸着防止を目的として各種の物質を添加することが行われているが、この吸着防止を目的として添加する物質（以下、吸着防止剤と称す）としては、従来、メチルセルロース、POE-硬化ヒマシ油およびその誘導体（例えばHCO-60）、レシチン、ヒドロキシプロピルセルロース、エチレンオキシドプロピレンオキシド共重合体、POE-ソルビタンアルキルエステル類（例えばPOE-ソルビタンモノオレート、TWEEN80、POE-ソルビタンモノラウレート）、メチルサイクロデキストリン、ソルビタン脂肪酸エステル、POE-オクチルフェニルエーテル、POE-ラウリルエーテル、パシトラシン、ポリエチレングリコール6, 000、塩化ベンザルコニウム、ゼラチン、BSA、HSA（ヒト血清アルブミン）、尿素およびカゼイン等の界面活性剤や高分子物質が知られている。

「問題点を解決するための手段」

本発明者らは、前述の問題点を解決すべく種々の物質の吸着防止効果を研究した結果、グリチルリチン類により所期の目的が達成されることを知り本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、ポリペプチド類の吸着を防止するに当り、グリチルリチン類を有効成分とする吸着防止剤に関する。

本発明におけるポリペプチド類としては、分子量1000～30000、さらに好ましくは、分子量1000～10000の範囲に含まれるペプチドまたはその誘導体が挙げられる。また、ポリペプチド類として生理活性ポリペプチド類であり医薬品として投与されるに当り吸着防止を必要とするものも好ましいが、例えばカルシトニン、ACTH（副腎皮質刺激ホルモン）、PTH（パラサイロイドホルモン）、インシュリン、セクレチン、オキシトシン、成長ホルモン、アンギオテンシン、ブラディキニン、 β -エンドルフィン、サブスタンスP、グルカゴン、ダイノルフ

さらに、生理活性ポリペプチド類と同様に、免疫測定反応における試薬として種々のポリペプチド類が用いられているが、これらのポリペプチド類にも同様に免疫測定系において器具、容器等への吸着が生じ、その定量の不正確性や測定濃度の限界を与える原因の1つとなっている。

「発明が解決しようとする問題点」

注射液等の非経口投与製剤は、安全であり、且つ安定でなければならず、免疫測定も正確性が要求されるものであるが、前述の吸着防止剤においてはこれらの条件を必ずしも満足するとは言えなかった。例えば、生理活性ポリペプチド類に対するHCO-60、TWEEN80、塩化ベンザルコニウム等の添加においては、ヒスタミン遊離による血圧降下、溶血等の副作用が発生しやすいことが広く知られている。また、吸着防止効果のある高分子物質を医薬品として認可されていないものが多く、ヒト血清アルブミンなどはエイズや肝炎の問題もあり使用することが困難であり、さらに有用な吸着防止剤の開発が求められている。

イン、バソプレシン、ソマトスタチン、ガストリン、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、プロラクチン、黄体形成ホルモン放出ホルモン（LH-RH）、エンケファリン、ニューロテンシン、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）、インターフェロン、インターロイキン、G-CSF、グルタチオンシパーオキシダーゼ、スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）等およびそれらの活性を保持しつつ1種または2種以上のアミノ酸を置換した類似体（ムテイン）や、それらの誘導体または塩類が挙げられる。さらに本発明の対象とするその他のポリペプチド類としては、免疫測定において使用されるペプチド抗原が挙げられ、例えば、免疫測定において測定対象の公知の種々のペプチドホルモンまたはそのフラグメントあるいはこれらの類似体が例示される。

生理活性ポリペプチド類において、極めて重要な生理活性を有するものとしては、例えばカルシトニンは血清カルシウム低下作用を有するペプチドホルモンの総称で、天然型カルシトニンま

たはその類似体が知られている。天然型カルシトニンとしては、ウナギカルシトニン、サケカルシトニン、ブタカルシトニン、ヒトカルシトニン、ニワトリカルシトニン等が挙げられ、内分泌細胞から分泌されたカルシウム調節ホルモンとしての機能を果たしている。また類似体としてはエルカトニン（〔Asu¹⁻⁷〕ウナギカルシトニン）、〔Asu¹⁻⁷〕ヒトカルシトニンなどが知られている。

またPTH（パラサイロイドホルモン）とは血清カルシウム上昇作用を有するペプチドホルモンで34～84個のアミノ酸配列を有し、天然型PTHまたはその類似体が知られている。それらを例示すれば、ヒトパラサイロイドホルモン（1-84）（human parathyroid hormone; h-PTH）（Biochemistry 17, 5723（1978））、h-PTH（1-34）（Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 355, 415（1974））、h-PTH（1-34）NH₂（特開昭58-96052号公報）

、〔Nle²⁻¹⁰〕h-PTH（1-34）、〔Nle²⁻¹⁰, Tyr³⁴〕h-PTH（1-34）（特開昭55-113753号公報）、〔Nle²⁻¹⁰〕h-PTH（1-34）NH₂（特開昭61-24598号公報）、〔Nle²⁻¹⁰, Tyr³⁴〕h-PTH（1-34）NH₂（特開昭60-34996号公報）、ラットPTH（1-84）（J. Biol. Chem., 259（5）, 3320（1984））、ラットPTH（1-34）（Endocrinol., 117（3）, 1230（1985））、ウシPTH（1-84）（Am. J. Med., 50, 639（1971））、ウシPTH（1-34）、ウシPTH（1-34）NH₂等（Pihobioogy annual, 11, 53（1981））等が挙げられる。

本発明に用いられるグリチルリチン類とは、甘草またはその同属植物の根から抽出されることが知られているグリチルリチン酸またはその塩、およびそのアグリコンでβ-アミリン系のトリテル

ペノイド化合物であるグリチルレチン酸またはその塩、さらにこれらの類似体や誘導体またはその塩を意味する。さらに、塩としては非毒性塩が好ましく、例えば、カリウム塩、ナトリウム塩、アンモニウム塩、カルシウム塩等が挙げられ、カチオンが1価である場合にはモノ塩、ジ塩、トリ塩が例示される。また、グリチルリチン類を使用するに際しては、これらの物質よりなる群から選択された1種または2種以上を用いてもよい。

本発明においてポリペプチド類を吸着させる器具、容器壁等とは、ガラス製またはプラスチック製の容器壁等であり、例えば各種のガラス、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレンアクリロニトリル、ポリスチロール、ポリカーボネート、ポリメチルペンテル等の微小な多孔性材質のものが挙げられる。これらの器具、容器はアンブル、注射筒、輸液ボトル、点滴用導出管、免疫測定用の反応容器等であって、例えば非経口用製剤や免疫測定用試薬の製造時、貯蔵時、使用時等に使用されるものである。

吸着防止に必要なグリチルリチン類の配合量は、主にポリペプチド類の種類や容器壁の接触面積およびその材質に応じて変動し得るので、適宜量を定めることが望ましいが、必ずしもそれぞれに応じて決定することができないので、一般的にはポリペプチド類含有物を含有する水溶液または水性懸濁液に対し0.01（w/v）%以上配合すればよく、また上限量として5%程度存在すれば充分である。好ましくは、顕著な吸着防止効果を示す0.1%程度～2%程度の濃度で使用するればよい。

本発明の吸着防止剤を使用するに当たっては、ポリペプチド類とグリチルリチン類とが必ずしも当初から同一の組成物中に共存している必要はなく使用時に混合することを目的として組み合わせた組成物であってもよい。またそれらの組成物は、ポリペプチド類が単独で溶液状態である場合を除き溶液状態であるか乾燥固体状態であるかを問わない。すなわち以下に示す数種の形態が挙げられる。

①ポリペプチド類とグリチルリチン類とが同一の水溶液または水性懸濁液中に直接共存するように配合された組成物。

②ポリペプチド類とグリチルリチン類とが同一の乾燥固体中に直接共存するように配合された組成物または用時溶解用乾燥組成物。

③ポリペプチド類とグリチルリチン類とがそれぞれ別の乾燥固体として与えられ用時に両者を混合せしめるように組み合わせた組成物。

④ポリペプチド類が乾燥固体として与えられ、グリチルリチン類が水溶液または水性懸濁液として与えられ用時に両者を混合せしめるように組み合わせた組成物。

また上記の組成物を乾燥固体状態で得るには凍結乾燥法が有利に利用される。なお、乾燥固体状態の組成物の使用に際しては、用時に注射用蒸留水、生理食塩液や免疫測定用反応液等で溶解すればよいことは言うまでもない。

本発明の吸着防止剤は上記に述べた形態において、さらに適当な安定化剤、界面活性剤、溶解補

助剤、緩衝剤、等張化剤または増量剤等を適宜選択し組み合わせて使用してもよい。

また、本発明に対する好ましい生理活性ポリペプチド類の製剤としては、注射剤、点滴用製剤、経鼻投与用製剤、点眼用製剤、外用剤等が挙げられるが、液状、用時溶解の粉末状の注射や、液状、ゼリー状、粉末状での外用または経鼻等の投与がされ得る。

次いで本発明を実施例を挙げて、以下にさらに具体的に説明するが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

実施例 1～3

吸着防止剤：

グリチルリチン酸（丸善化成社製）、グリチルリチン酸モノアンモニウム（丸善製薬社製）、グリチルリチン酸ジカリウム（常盤植物化学研究所製）を生理食塩液に溶解し、NaOHまたはHClでpHを約6に調整し、各々、2%（w/v）、0.1%、0.01%となるように調製し、吸着防止試料とした。別に対照試料として生理

食塩液を用意した。

試験方法：

サケカルシトニン（シグマ社製）を生理食塩液に溶解して200μg/mlの濃度の溶液を調製し、この10μlを上記各吸着防止試料1mlに添加してNaOHまたはHClでpH5.5に調整し、下記の第1表の通りの実施例1～3の薬剤溶液とした。

各薬剤溶液をポリプロピレン製試験管に注入して30分間放置後、高速液体クロマトグラフィーもしくは生物活性測定試験にて、サケカルシトニンの残存率を求めた。なお、高速液体クロマトグラフィーの条件は、YMC Packed AM-302 ODS、波長220nm、移動相はCH₃CN-0.1% TFA混液、試料によりIsocratic Stepwise Gradient法を使用した。

結果：

第1表に示した結果から明らかなように、吸着防止剤としてグリチルリチン類を添加した場合には、サケカルシトニンの容器壁への吸着が防止さ

れた。

第1表 吸着防止効果

実施例	吸着防止剤の種類	添加量(%)	サケカルシトニンの残存率
1	グリチルリチン酸	0.01 0.1 2.0	79.6% 95.2 97.4
2	グリチルリチン酸モノアンモニウム	0.01 0.1 2.0	85.0 97.8 101.5
3	グリチルリチン酸ジカリウム	0.01 0.1 2.0	77.1 101.2 98.6
対照	—		75.4

実施例 4

h-PTH(1-34)（東洋醸造社製）1mg、マンニット0.6g、グリチルリチン酸モノアンモニウム0.2gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し、全量を200mlとした。無菌的に1mlずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例 5

インシュリン（シグマ社製）4000単位、グ

リチルリチン酸ジカリウム0.2g、フェノール0.2g、NaCl1.6gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し、塩酸でpH3.0に調整し、全量を200mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例6

ACTH（フナコシ社製）10000単位、グリチルリチン酸モノアンモニウム1.0g、NaCl4.0gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を500mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例7

ウナギカルシトニン（シグマ社製）0.4mg、グリチルリチン酸0.1g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解しNaOHでpH5.5に調整して全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例8

エルカトニン（東洋醸造社製）0.4mg、グ

100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例12

アンギオテンシン（和光純薬社製）0.2mg、グリチルリチン酸ジカリウム0.2g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例13

ブラディキニン（和光純薬社製）0.4mg、グリチルリチン酸0.1g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解しNaOHでpHを5.5に調整し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例14

β-エンドルフィン（シグマ社製）0.1mg、グリチルリチン酸モノアンモニウム0.5g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓず

リチルリチン酸ジカリウム0.1g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例9

セクレチン（フナコシ社製）0.4mg、グリチルリチン酸ジカリウム0.2g、NaCl0.8gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例10

オキシトシン（和光純薬社製）0.8mg、グリチルリチン酸モノアンモニウム0.5g、NaCl0.8gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例11

ヒト成長ホルモン（フナコシ社製）0.1mg、グリチルリチン酸ジカリウム1g、NaCl0.7gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を

つアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例15

グルカゴン（フナコシ社製）0.4mg、グリチルリチン酸モノアンモニウム0.05g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例16

ダイノルフィン（フナコシ社製）0.2mg、グリチルリチン酸モノアンモニウム0.1g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

実施例17

インターフェロン（γ型、シグマ社製）10000単位、グリチルリチン酸ジカリウム0.05g、NaCl0.9gを蒸留水（または滅菌水）に溶解し全量を100mℓとした。無菌的に1mℓずつアンプルに分注し熔融封入して注射剤を得た。

「発明の効果」

本発明によれば、グリチルリチン類を添加することによって、ポリペプチド類例えばカシトニン等を始めとする生理活性ポリペプチド類の器具、容器等への吸着が効率的に防止され、医薬としてこれらを投与する場合、投与量を正確とすることなくその有効性と安全性が確保される。また本発明を製造時や保存時に用いるなら、高価格であるこれら生理活性ポリペプチド類が吸着により失われることを防ぐ経済的メリットは大きいものである。さらに、免疫測定においても測定系にかかるポリペプチド類が免疫反応容器に吸着することが防止され正確な免疫測定が行いえる。

特許出願人 東洋醸造株式会社